THE STATE WAS ARRESTED TO STATE OF THE STATE	WEST	gradulius seemakan oo madaan oo maadaa oo saadaa saadaa oo saadaa oo saadaa oo saadaa oo saadaa oo saadaa oo s	10/006323
•	Generate Collection Print		Draw 4/04 h sources

L2: Entry 48 of 49

File: JPAB

Jun 20, 1987

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 62138148 A TITLE: FEED ADDITIVE FOR AQUATIC ANIMAL

Abstract Text (1):

PURPOSE: A safe feed additive for <u>aquatic</u> animals, containing microbial cells of Bacillus toyoi or spores thereof as an active ingredient, having promoting effect on growth of fishes and preventing effect on bacterial diseases without causing problems of pollution of fish ground, resistant germs, etc.

Abstract Text (2):

CONSTITUTION: A feed additive containing microbial cells of Bacillus toyoi, e.g. Bacillus cereus T-7112 (FERM-P No.1214), or spores thereof as an active ingredient. 1010 spores/g are preferably added to give 0.05∼0.2% in a feed or the additive is preferably administered to give ≥105 spores/g based on the fish body weight.

# ⑩ 公 開 特 許 公 報 (A) 昭62 - 138148

<pre>⑤Int Cl.⁴</pre>	識別記号	厅内整理番号	❸公開	昭和62年(198	37)6月20日
A 23 K 1/1 C 12 P 1/0 // A 23 K 1/1	14	A-6754-2B 6760-4B W-6754-2B		: 発明の数 1	(全6頁)

図発明の名称 水産動物用飼料添加剤

②特 願 昭60-277698

29出 願 昭60(1985)12月10日

79発 明 者 笹 Ш 静岡県田方郡大仁町田京866-8 勉 70発 明 者 渡 辺 典 夫 横浜市磯子区栗木町1-9-7 ⑫発 明 者 井 上 啓 小金井市中町2-2-3 ⑫発 明者 北村 弘正 静岡県田方郡大仁町三福632番地の1 ⑪出 願 人 東洋醸造株式会社 静岡県田方郡大仁町三福632番地の1 個代 理 弁理士 有賀 三幸 外2名

明 細 書

# 1. 発明の名称

水產動物用飼料添加剤

## 2. 特許請求の範囲

パチルス・トヨイの菌体またはその芽胞を有効成分として含有することを特徴とする水産動物用飼料添加剤。

# 3.発明の詳細な説明

# 〔産業上の利用分野〕

本発明は水産動物用飼料添加剤、更に詳細には、 パチルス・トヨイの関体又はその芽胞を含有し、 水産動物の成長促進及び細菌性疾患の予防効果を 有する飼料添加剤に関する。

### 〔従来の技術およびその問題点〕

一般に、抗菌性物質を家畜に微量投与するとその成長を促進するが、これを魚類に投与しても当該効果は認められない、そしてその理由は、魚類の消化管内には腸内細菌が少ないか、あるいは空腹時には殆んど存在しないことによるとされていた(「養魚飼料学」、第234頁、恒星社厚生閣

版、1977年)。

また、近年、過密飼育、餌の残溶のヘドロ化に よる水の汚染等の魚場環境の悪化によつて発生する魚類の疾病を予防する目的で、抗菌性物質を飼料に添加投与することが行われているが、これも 抗菌性物質による魚場の汚染、魚体内への抗菌性 物質の蓄積・残留、耐性菌の出現等の問題があつ た。

従つて、抗菌性物質のような上配欠点がなく、 魚類の成長を促進し、かつ魚類の疾病を予防する ととのできる飼料添加剤の開発が望まれていた。 〔問題点を解決するための手段〕

斯かる実状において、本発明者らは鋭意研究を行つた結果、バチルス・トヨイの関体又はその芽胞が魚類の成長を著しく促進する作用を有すると 共に、魚病に対し優れた予防効果を有するととを見出し、本発明を完成した。

(2)

すなわち、本発明は、バチルス・トヨイの関体 またはその芽胞を有効成分として含有する水産動 物用飼料添加剤を提供するものである。

本発明において、バチルス・トヨイ (Bacillus toyoi) 菌は「飼料と飼料工業」、第18巻、第12号、第45~48頁(1978)に記載の選であり、また特公昭52-8381号に記載のバチルス・セレウスT-7112(微工研菌寄第1214号)と同じものである。その関体及びこれが形成する芽胞は特公昭52-8381号公報に記載の方法によって採取することができる。

本発明の水産動物用飼料派加剤は、バチルス・

(3)

抗菌剤;ワクチン、 駆虫剤等を配合することもで きる。

本発明の飼料添加物の水産動物用飼料への添加方法は特に制限されないが、一般には生餌あるいはドライズは配合飼料に添加混合するか、あるいはドライズレット等の場合には油脂、水等で付着させるカイズ等によつてなされる。例えばバチルス・トョイの芽胞が10<sup>16</sup>個/チ以上になるように投与するのが、成長促進、魚病の予防及び経済性の点から望ましい。

本発明の飼料添加剤を配合した飼料は種々の水産動物に給餌してその効果を得ることができるが、特にウナギ、ハマチ、タイ、アジ、ヒラメ、サケ、テラピア、コイ等において優れた効果を奏する。とれらの魚類への給餌期間は特に制限されないが、配合飼料給餌魚の場合は当該飼料摂取時から出荷時まで、また生飼料給餌魚の場合には養殖魚導入時より出荷時までの長期間与えるのが好ましい。

トヨイの関体または芽胞それぞれ単独でもよいが、 斯かる場合に一般に使用される賦形剤、例えば炭酸カルシウム、デキストリン等と共に製剤化する こともできる。当該製剤としては、例えば、バチ ルス・トヨイの芽胞を炭酸カルシウム等に添加し て製剤化したトヨセリン(商品名)末(芽胞10<sup>10</sup> 個/チ)、トヨセリン散(芽胞10<sup>9</sup> 個/チ)が知 られている。

この製剤中には、上記閣体、芽胞のなかに、飼料の強化に一般に使用されている添加物、例えば、ビタミンA,B<sub>1</sub>,B<sub>2</sub>,B<sub>6</sub>,B<sub>12</sub>,C,D<sub>3</sub>,E,K<sub>5</sub>、コリン、パントテン酸、ビオチン、ニコチン酸、イノン、パントテン酸、ビオチン、ニコチン酸、イノン、ナトリウム、カリウム、マグネンウム、鉄、亜鉛、マンガン、鍋、コパルト、セレン、モリブテン、カリン、、カリブトフアン、グルタミンで、カリシン、アラニン等のアミノ酸類;ブロテアーゼ、リバーゼ、セルラーゼ、アミラーゼ、ペクチナーゼ等の酵素類;抗菌性物質、サルフア利等の

(4)

特に、稚魚期あるいは養殖導入時、網変え、週別時又は水温が急激に変化したような時及び仕上時期等に給餌するのが好ましい。

# 〔作用〕

本発明のパチルス・トヨイの関体又は芽胞の魚類に対する疾病の予防効果並びに成長促進効果の詳細は定かでないが、①当該菌が腸内で増殖して病原菌及び有害菌の増殖及び定着を阻止する、②当該菌が魚体内に発生する有害物質を無難化するかあるいはその生成を阻止することによるものと思われる。 [発明の効果]

本発明の飼料添加剤を配合した飼料を水産動物に給餌すると成長が早く、成長度合も整一化されると共に、体色のあざやかなものが得られる。更にまた、パチルス・トヨイの関体は無路であるため魚場を汚染する惧れもないと共に耐性関等の問題も生じない。

### 〔 寒施例〕

次に実施例を挙げて本発明を説明する。

(5)

### 実施例1

### (1) 寒験方法

シラスウナギ3kg(約2万尾)を1.5kg(約1万尾)づつ分配して2区設定した。試験区はトヨセリン末0.1多を添加した配合飼料(中部飼料、5なぎ養中用飼料)(バチルス・トヨイの胞子として10<sup>7</sup>個/۶)を給餌した区、対照区は炭酸カルシウムのみを0.1多添加した配合飼料を給餌した区の2区を設定した。これらの飼料は4週間連続給餌し、毎日斃死魚を数えた。斃死魚は病因を調査した。

## (2) 爽験結果

結果は表1のとおりである。

表 1 日間斃死数(尾)

経過	日数(	日)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
トヨ・	セリン銃	加区	3	4	2	3	0	1	3	0	1	0	4	2	3	0	0
対	照	区	0	2	2	3	0	0	4	1	3	0	2	8	14	11	26

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	計
2	1	4	3	0	0	2	0	1	1	1	3	1	45
 39	20	6	8	4	6	7	1.0	9	5	10	12	3	215

(7)

# (2) 実験結果

結果は表2のとおりである。

表 2 日間斃死数(尾)

経過日数		E. tarda 投与									$\mathbb{Z}$				
(日)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	$\ ($	40	計
トヨセリン 旅加区	0	0	0	0	0	20	10	0	0	0	0	0		0	30
対照区	0	0	0	5	8	30	15	2	(:	全個	体数	死)			60

親2に示すように、試験区の斃死数が30尾であつたのに対し、対照区は投与8日目までに全個体が斃死し、明らかな差が認められた。なお、斃死はいずれもパラコロ病によるものと診断された。

以上のことから、ウナギ稚魚にトヨセリンを 添加した飼料を給餌することにより、パラコロ 病による発死数を減少させる効果のあることが 認められた。

# 爽 施 例 3

# (1) 爽験方法

表1に示すように、試験区の斃死数が45尾であつたのに対し、対照区は215尾であり、明らかに差が認められた。たか、斃死魚からは何れもE、tarda が分離されバラコロ病と診断された。

以上のことから、トヨセリンを飼料に添加して給餌することによりシラスウナギのパラコロ病による斃死数を低下させる効果のあることが認められた。

#### 実施例2

### (1) 実験方法

ウナギ稚魚(クロコ)120尾を60尾ずつ分配して2区股定した。試験区には配合飼料(中部飼料、うなぎ餐中用飼料)にトョセリン末0.1 多(1×10<sup>1</sup> 個/9)および E. tarda 1×10<sup>1</sup> 個/9を添加して与え、対照区には配合飼料に試験区と同量のE. tardaのみを添加して与えた。給餌量は両区とも魚体重の5 多とし、10日間連続投与した。投与終了後は配合飼料のみを与え、30日間観察した。

(8)

シラスウナギ20㎏(約10万尾)を10㎏ (約5万尾)づつ分配して2区設定した。試験 区はトヨセリン末0.1%を添加した配合飼料、 くみあい配合飼料、しらす、くろと養中用と飼料を使用)(バチルス・トヨイの胞子と炭 で個/タ)を給餌した区、対照区は炭を給餌した シウムのみを0.1%添加した配合飼料を始餌に シウムのみを0.1%添加した配合飼料を給餌に シウムのなを設定した。これらの飼料は口かた ためら平均体重10%であるまで投与した。 投与終すで増体量、斃死率および けから8ヶ月後まで増体量について調 をした。

# (2) 実験結果

結果は表3、表4及び表5に示すとおりである。

以下汆白

(9)

表 3 10 9 / 尾になるまでの配合飼料給餌後の飼育日数。 平均体重分布および斃死率

試	験	区	日数 (日)	平均体重の分布(好	** 斃死率
FB	セリ	ン区	3 5	1 0.1 ± 1.2 (8.1~1 2.2)	1.2% (約600尾)
対	照	区	+6	9.8 ± 2.7 (5.2~1 3.3)	6.8 % (約3 4 0 0尾)

\* x ± S D (最低体重~最高体重) 5 0 尾の平均

\*\* 5万尾に対する割合

表 4 6 ケ月 および 8 ケ月後の全体に対する出荷量の割合 (5 万尾)

試験区	6 ケ月	8 ケ月
トヨセリン区	28.7% (14350尾)	423季(21150尾)
対 照 区	11.3%(5650尾)	34.1% (17050尾)

表 5 8ヶ月後の全体(5万尾)に対する斃死率

弒 験 区	斃 死 率
トヨセリン区	2.2 % (1100尾)
対照区	9.8% (4900尾)

( )内は斃死尾数

(11)

数および増体値について調査した。

# (2) 夷験結果

結果は表6のとおりである。

表 6

試 験 区	総斃死数	斃死率	平均增体量	総投餌量
トヨセリン区	2,370	14.36%	5567	4 1,5 9 8kg
対 照 区	2,958	1 7.9 3 %	470%	3 8,0 4 9kg

表 6 に示すように、試験区は対照区と比較して、 斃死数、 増体量とも明らかな差が認められた。 又、ハマチ特有の黄色の模様も鮮かであつた。

以上のことからハマチ稚魚にトヨセリンを添加した飼料を給餌することにより斃死数の減少、成長促進効果のあることが認められた。

### 寒 麻 例 5

### (1) 実験方法

魚体重2009のハマチ 稚魚 8,000 尾を4,000 尾ずつ分配して2区設定した。試験区にはビタミンブレミックス(三鷹製薬社製、ビタマリー 表3~表5 に示すように、試験区は成長日数、 斃死率かよび出荷量にかいて対照区と明らかな 差を認めた。又、トヨセリン投与区は体色で艶 が対照区と比べ非常によく成長も整一化される 為、選別回数が少なく、くず魚の出現も少なか つた。尚、ヘドロの臭気も若しく軽減されてい た。

以上のことから、トヨセリンを飼料に添加して給餌することにより成長促進および斃死数を 低下させる効果があることが認められた。

### 実施例 4

### (1) 実験方法

魚体重50分のハマチ稚魚33,000 尾を16,500 尾ずつ分配して2区設定した。試験区にはビタミンプレミックス(三鷹製薬社製、ビタマリーネ・N)1.5 がおよびトヨセリンを1尾1回あたり1×10<sup>8</sup> 個になるように添加した生餌料を与え、対照区にはビタミンプレミックス1.5 がのみ添加した生餌料を与えた。投与は4ヶ月間、延べ82回行い、投餌量、斃死魚尾

(12)

オ・N) 1.5 多およびトョセリン1尾1回あたり1×10 個になるように添加した生餌料を与え、対照区にはビタミンブレミックス1.5 多のみ添加した生餌料を与えた。投与は1週間(延べ25回)行ない、投餌量、遊死魚尾数および増体量について調査した。

# (2) 実験結果

結果は殺7のとおりである。

表 7

試	鹸	区	総斃死数	斃死率	平均增体量	総投餌量
13	セリ	ン区	26	0.65%	180%	9,300kg
対	퓄	区	3 1	0.775%	1428	8,290kg

表7に示すように試験区は対照区と比較して、 斃死数、増体量とも明らかな差が認められた。 又、体色も良効であつた。

以上のことからハマチ稚魚にトヨセリンを添加した飼料を給餌することにより斃死数の減少、 成長促進効果のあることが認められた。

宴 施 例 6

#### (1) 実験方法

## (2) 実験結果

結果は表8のとおりである。

以下汆白

(15)

感染の侵入門戸といわれている消化管内におけるパチルス・トヨイの排他的効果が期待される。

以上

出願人 東洋酸造株式会社

代理人 弁理士 有 賀 三 幸

升理士 高 野 登志雄

弁理士 小 野 信 き

# 表 8 供試魚の腸内から分離したパチルス・トョイ 及び総細菌数

供飲日数試験区分	0日日	14日目	1ヶ月目	45日目
パチルス・	0	1.3×10 <sup>3</sup>	2.2×10 <sup>2</sup>	2.7×10 <sup>2</sup>
トヨイ投与 区	4.0×10 <sup>6</sup>	3.1×104	3.0×10 <sup>2</sup>	8.4×10 <sup>2</sup>
54 um 157	0	0	0	0
対照区	5.1×10°	3.8×1 04	3.8×10°	1.5×1 0 <sup>7</sup>

単位:Cells/9 上段:バチルス・トヨイの菌数

(5尾の平均値) 下段:総細菌数(トヨセリンも含む)

表7に示すよりに、パチルス・トョイの投与によりハマチ腸内細菌が減少し、パチルス・トョイに置き換わつていることがわかる。 又抗生物質の投与による腸内菌数の影響は少ない。一方、対照区は抗生物質の投与によつて腸内関数は減少しているが投与を中止するとやがて増加してくる傾向にある。

魚は一般に腸内細菌が少ないかあるいは持たないとも言われており今回の試験での総菌数は 生餌に由来しているとも考えられるので、細菌

(16)

手 統 補 正 暫(自発)

昭和 61 年 2 月 3 日

特許庁長官 字 賀 道 郎 殿

- 1. 事件の表示 昭和 60 年 特 許 頼第 277698 号
- 発明の名称
   水産動物用飼料添加剤
- 補正をする者
   事件との関係 出願人
   住 所
  - 名 称 東洋醸造株式会社
- 4. 代理人

住 所 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号(〒103) 共同ビル 電話(669)09 (延代)調

氏 名 (6870) 弁理士 有 賀 三 幸

住所同 上

氏 名 (7756)弁理士 高 野 登志雄

住所同 上

氏名 (8632)弁理士小野僧

5. 補正命令の日付

白谷



6. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の欄

- 7. 補正の内容
- (1) 明細書中、第5頁第3行

「飼料添加物」とあるを、

「飼料添加剤」と訂正する。

(2) 同、第11頁の「表3」を次のとかり訂正 する。

「表3 108/尾になるまでの配合飼料給餌後の飼育日数、平均体重分布および斃死率

試験区	日数旧	平均体重の分布(9)	遊 死 率
トヨセリン区	3 5	$10.1 \pm 1.2$ (8.1~12.2)	1.2 <b>%</b> (約600尾)
対 雁 区	4 6	9.8 ± 2.7 ( 5.2~1 3.3 )	6.8 % (約3,4 0 0尾)

- \* x ± SD (最低体重~最高体重)50尾の平均
- \*\* 5万尾に対する割合」

- 2 -

(6) 同、第15頁第12行

「14日目~18日目」とあるを、

「投与後14日目~18日目」と訂正する。

(7) 阿、第16頁の「表8」中、「14日目」の機第1行

「1.3×10³」とあるを、

「1.8×103」と訂正する。

(8) 同、第16頁の「畏8」の下、第2行
「総細菌数(トョセリンも含む)」とあるを、「総細菌数(パチルス・トョイも含む)」と訂正

する。

(9) 同、第16頁の「表8」の下、第3行

「表7に示すように」とあるを、

「 表 8 に 示すように 」と 訂正する。

(3) 同、第1 1 頁の「表4 」を次のとおり訂正 する

『表4 6ヶ月および8ヶ月後の全体に対する出荷量の割合 (5万尾)

試験区	6ヶ月	8 ケ月		
トヨセリン区	28.7%(14,350尾)	42.3多(21,150尾)		
対 照区	11.3%(5,650尾)	34.1多(17,050尾)		

(4) 同、第11頁の「表5」を次のとおり訂正する。

『袰5 8ケ月後の全体(5万尾)に対する斃死率

試易	食区		斃	死	率	
ነ ።	リン区		2.2 %	( 1,1	00尾)	
対照	区区		9.8 %	( 4,9	00尾)	

( )内は斃死尾数

(5) 同、第15頁第7行

「14日目、」とあるを

「投与後14日目、」と訂正する。

- 3 -